

¿El descubrimiento de autoanticuerpos dirigidos a la nefrina en la enfermedad de cambios mínimos apoya una nueva etiología autoinmune de esta?

Watts A, Keller K, Lerner G, Rosales I, Collins A, Sekulic M, et al. Discovery of autoantibodies targeting nephrin in minimal change disease supports a novel autoimmune etiology. *J Am Soc Nephrol.* 2022;33:238-52.

Análisis crítico: Yunayka Díaz Enamorado¹, Clara Cases Corona¹, Laura García-Bermejo², Gema Fernández Juárez¹


¹Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Alcorcón. Madrid

²Grupo de Dianas Terapéuticas y Biomarcadores. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid


NefroPlus 2022;14(1):40-43

© 2022 Sociedad Española de Nefrología. Servicios de edición de Elsevier España S.L.U.


■ Tipo de diseño y seguimiento

 Estudio experimental exploratorio.


■ Asignación

 No aleatorizado.

■ Enmascaramiento


 Estudio abierto.

■ Ámbito

 Brigham and Women's Hospital (BWH), Massachusetts General Hospital (MGH), Boston Medical Center (BMC) y la Mayo Clinic.

■ Pacientes

■ Criterios de inclusión

 Se incluyó a pacientes, tanto niños como adultos, procedentes de la cohorte de estudio del síndrome nefrótico (NEPTUNE) con diagnóstico de enfermedad de cambios mínimos (ECM) confirmada por biopsia renal y tras descartar causa genética, de los cuales se disponía de suero obtenido simultáneamente a la realización de la biopsia renal, cuando la enfermedad estaba activa.

Se consideraron controles sanos a aquellos casos seleccionados aleatoriamente dentro del Partners Healthcare Biobank y se excluyó específicamente a aquellos individuos con alguna enfermedad renal o autoinmune. Adicionalmente se incluyó una cohorte procedente del mismo biobanco con síndrome nefrótico completo y presencia de anticuerpos antirreceptor de fosfolipasa A2 (anti-PLA2r) positivos medidos por ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*) e inmunofluorescencia indirecta (IFI). Para los estudios histológicos se utilizaron 21 biopsias renales con el diagnóstico de ECM. Estos pacientes

fueron diferentes a los de las cohortes en que se estudiaron los autoanticuerpos séricos.

■ Criterios de exclusión

No se aplicaron criterios de exclusión específicos.

■ Intervenciones

Se determinó la presencia de autoanticuerpos circulantes para la nefrina mediante técnica de ELISA en el suero de los pacientes incluidos en el estudio en el momento del diagnóstico y posteriormente tras alcanzar remisión completa o parcial.

En las biopsias renales, se estudió la presencia de depósito de inmunoglobulina G (IgG) en la biopsia renal, su colocalización con la proteína nefrina en la biopsia renal, así como la presencia de autoanticuerpos séricos según la presencia o ausencia de depósitos tisulares de IgG.

Se definió enfermedad activa cuando el cociente proteína/creatinina en orina era superior a 3 g/g.

La remisión completa se definió como un cociente proteína/creatinina urinaria inferior a 0,3 g/g; la remisión parcial se definió como una reducción de más del 50% en la proteinuria, pero que no cayera por debajo de 0,3 g/g.

La presencia de anticuerpos antinefrina en suero se determinó tanto por ELISA, teniendo las placas recubiertas con nefrina humana recombinante, como por inmunoprecipitación del complejo nefrina-anticuerpo con perlas recubiertas de anti-IgG.

■ Variables de resultado

■ Variable principal

Identificar la presencia de autoanticuerpos de nefrina circulantes en dos cohortes de pacientes: cohorte de pacientes con síndrome nefrótico secundario a ECM con confirmación histológica y cohorte control formada por pacientes con síndrome nefrótico y presencia

de anticuerpos anti-PLA2r positivos medidos por ELISA e IFI.

El umbral de anticuerpos para considerar los niveles de autoanticuerpos antinefrina (α -nefrina Ab) como positivo fue el valor más alto observado en la cohorte control sin patología renal ($n = 30$).

Variables secundarias

Analizar la colocalización de nefrina tisular con la presencia de IgG a nivel podocitario en las biopsias renales en pacientes con ECM.

■ Análisis estadístico

Se utilizó la prueba de Mann-Whitney para variables continuas y la prueba exacta de Fisher para variables cualitativas, y se estableció la significación estadística en $p < 0,05$. Las variables continuas se presentan como mediana (rango intercuartílico).

■ Ética y registro

Protocolo aprobado por el comité de ética e investigación de cada uno de los centros participantes en el

estudio, de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. Todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito.

■ Conflicto de intereses

El Nephrotic Syndrome Study Network Consortium (NEPTUNE), U54-DK-083912, forma parte del Instituto Nacional de Salud (NIH, National Institute of Health) Red de Investigación Clínica de Enfermedades Raras (RDCRN, Rare Diseases Clinical Research Network), apoyada a través de una colaboración entre la Oficina de Investigación de Enfermedades Raras (ORDR, Office of Rare Diseases Research), el National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS) y el Instituto Nacional de Diabetes, Enfermedades Digestivas y Renales. Han recibido financiación adicional o apoyo por parte de la Universidad de Michigan, NephCure Kidney International y la Fundación Halpin y de las becas T32 T32HL007627, T32DK007527, NIH DK007053-45S1, Eleanor Miles Shore de la Escuela de Medicina de Harvard.

■ RESULTADOS PRINCIPALES

Se seleccionó a 62 pacientes (41 niños y 21 adultos) con ECM demostrada por biopsia y sin base genética (sin variantes patógenas conocidas en genes mendelianos) de la cohorte NEPTUNE y a 54 pacientes con síndrome nefrótico y anticuerpos anti-PLA2r positivos. A todos se les determinaron los anticuerpos antinefrina.

El análisis del suero de los pacientes con enfermedad activa reveló que 18 (29%) de 62 pacientes, con igual número de adultos y niños, fueron positivos para autoanticuerpos contra nefrina. En relación con los sueros de control, 53 (98%) de 54 pacientes que dieron positivo para anticuerpos anti-PLA2R, por ELISA e IFI, fueron negativos para los anticuerpos antinefrina.

Las características clínicas de los pacientes y la mediana de tiempo desde el ingreso hasta completar la remisión fueron similares entre los grupos positivos y negativos de anticuerpos antinefrina (4,4 frente a 5,4 meses), respectivamente. Sin embargo, el periodo libre de recaídas fue más corto para el grupo con anticuerpos antinefrina positivo en comparación con el grupo de anticuerpos negativos, aunque este hallazgo no alcanzó niveles de significación estadística (mediana de tiempo hasta la recaída: 6,0 meses frente a 21,57 meses, respectivamente; $p = 0,09$).

En 12 de los 18 pacientes con presencia de anticuerpos antinefrina positiva en el momento de actividad tuvieron disponible una muestra cuando alcanzaron la remisión completa (cociente proteína/creatinina urinaria $< 0,3$ g/g) o parcial ($> 50\%$ de reducción en proteinuria); en todos ellos se observó ausencia o disminución significativa de los autoanticuerpos antinefrina.

Para analizar el potencial papel patógeno de estos autoanticuerpos antinefrina, se estudió si estos anticuerpos estaban presentes en las biopsias renales. Se estudiaron 21 biopsias renales, de las cuales 9 biopsias renales tuvieron depósitos de IgG positivos y 12 biopsias renales no mostraron depósitos. Todos los pacientes con depósitos tisulares tuvieron niveles positivos de autoanticuerpos antinefrina en suero. Por el contrario, fueron negativos en todos los pacientes en cuyas biopsias renales no se detectó depósito de IgG tisular.

Histológicamente, el depósito de IgG colocalizó espacialmente con la ubicación de la nefrina dentro del diafragma de hendidura, pero no con otras proteínas residentes en la estructura podocitaria. Finalmente, se demostró la presencia de autoanticuerpos antinefrina pretrasplante renal en una paciente de 27 años, con ECM dependiente de corticoides y recaída precoz. Asimismo, observaron su desaparición tras recibir tratamiento y alcanzar remisión completa.

■ CONCLUSIONES DE LOS AUTORES

El descubrimiento de los anticuerpos antinefrina en pacientes, adultos y niños, con ECM aporta por primera vez una posible etiología de esta enfermedad al menos en un grupo de pacientes. Aunque el diseño del estudio no permite establecer detalladamente el mecanismo implicado en la enfermedad, estudios animales previos dan verosimilitud a estos resultados¹. El conocimiento de la etiopatogenia de la enfermedad abre la posibilidad de focalizar el tratamiento en fármacos centrados en el linfocito B y de individualizar el tratamiento.

■ COMENTARIOS DE LOS REVISORES

Aunque se trata de un estudio experimental con un tamaño muestral limitado, sus resultados son trascendentes porque por primera vez se identifica, al menos en un porcentaje de pacientes con ECM, la etiología subyacente. Estos datos tienen que ser confirmados en estudios posteriores, con un tamaño muestral más amplio y con mejor selección de los pacientes. De confirmarse estos resultados, los anticuerpos antinefrina podrían ser utilizados como biomarcador para el diagnóstico de la enfermedad, evitando el uso de la biopsia renal, y para el seguimiento evolutivo de la enfermedad, adaptando la duración del tratamiento a la respuesta inmunológica.

Las principales limitaciones del estudio son:

- El tamaño muestral es escaso.
- Los autores plantean el umbral de positividad de los anticuerpos basado en la cifra máxima en la población control. Estudios de validación serían necesarios para establecer este umbral.
- Un alto porcentaje (97%) de los pacientes ya habían iniciado tratamiento inmunosupresor previo a la extracción de la muestra, lo que puede ocasionar que en determinados casos las cifras ya estuvieran por debajo del umbral, habiendo sido positivos antes del inicio del tratamiento.
- La determinación de los autoanticuerpos hubiera sido deseable que se hubiera realizado tanto por ELISA como por inmunoprecipitación en una «forma de ensayo competitiva», desafiando los anticuerpos patológicos presentes en el suero con un anticuerpo policlonal comercial. El anticuerpo comercial agregado en diferentes diluciones debe bloquear, de manera dependiente de la dosis, la unión de los anticuerpos del suero a la nefrina recombinante.

■ CONCLUSIONES DE LOS REVISORES

Este estudio abre una nueva línea etiológica para la ECM que siempre es el primer paso para encontrar tratamientos más específicos. Las posibilidades futuras de los anticuerpos antinefrinas desde el punto de vista diagnóstico y pronóstico son evidentes. Son necesarios estudios adicionales que confirmen los datos del estudio y que exploren las posibilidades planteadas.

■ CLASIFICACIÓN

Subespecialidad: Podocitopatías

Tema: Patología glomerular

Tipo de artículo: Etiología

Palabras clave: Podocitopatía. Síndrome nefrótico. Nefrina. Enfermedad glomerular. Autoanticuerpos

NIVEL DE EVIDENCIA: No aplicable

GRADO DE RECOMENDACIÓN: No aplicable

■ NOTAS CLÍNICAS

Las podocitopatías son enfermedades renales en las que el daño directo o indirecto sobre el podocito induce proteinuria y, en la mayoría de los casos, síndrome nefrótico. Su etiología, así como sus factores de riesgo, son muy diversos y su reconocimiento resulta fundamental para establecer el tratamiento óptimo. Entre los mecanismos de daño del podocito cabría destacar el inmunológico².

Hace una década se describió la glucoproteína PLA2r como responsable del 70-80% de todas las nefropatías membranosas primarias. Desde entonces, diversos antígenos han sido descritos como responsables de menores porcentajes de nefropatía membranosa primarias o secundarias: EXO-1, EXO-2 o THSD7A³⁻⁵.

En el caso de otras podocitopatías primarias, como la nefropatía por cambios mínimos y focal y segmentaria, el mecanismo todavía no es conocido. En modelos animales, los anticuerpos antinefrina han demostrado dañar al podocito y producir una proteinuria

masiva¹. Asimismo, en estudios clínicos posteriores se ha observado que niños con síndrome nefrótico congénito y deficiencia absoluta de nefrina pueden generar anticuerpos antinefrina postrasplante, lo que se acompaña de proteinuria⁶.

El estudio que se presenta en este caso abre la puerta a una posible explicación etiológica de esta patología, lo que puede ser un inicio para aclararla y facilitar su diagnóstico, así como para modificar el manejo terapéutico.

Estos anticuerpos también podrían ser útiles para el seguimiento de esta patología, así como un marcador adecuado de brote renal.

Cabe preguntarse si en los pacientes en los que no se encontraron anticuerpos antinefrina podrían existir otros anticuerpos dirigidos contra proteínas, que forman parte de la hendidura (podocina) o del citoesqueleto (actinina), que se sabe que son cruciales para mantener la estructura de la barrera de filtración.

Conflicto de intereses

Las autoras Yunayka Díaz Enamorado, Clara Cases Corona, Laura García-Bermejo y Gema Fernández Juárez declaran que no tienen conflictos de interés.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Takeuchi K, Naito S, Kawashima N, Ishigaki N, Sano T, Kamata K, Takeuchi Y. New anti-nephrin antibody mediated podocyte injury model using a C57BL/6 mouse strain. *Nephron*. 2018;138:71-87. <https://doi.org/10.1159/000479935>.
2. Arias M. Hernando, *Nefrología Clínica*. 4.a Edición. Madrid: Médica Panamericana.
3. Beck LH, Jr, Bonegio RGB, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med*. 2009;361:11-21. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0810457>.
4. Sethi S, Madden BJ, Debiec H, Charlesworth MC, Gross L, Ravindran A, et al. Exostosin 1/exostosin 2-associated membranous nephropathy. *JASN*. 2019;30:1123-36. <https://doi.org/10.1681/ASN.2018080852>.
5. Tomas NM, Beck LH, Jr, Meyer-Schwesinger C, Seitz-Polski B, Ma H, Zahner G, et al. Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med*. 2014;371:2277-87. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1409354>.
6. Holmberg C, Jalanko H. Congenital nephrotic syndrome and recurrence of proteinuria after renal transplantation. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)*. 2014;29:2309-17. <https://doi.org/10.1007/s00467-014-2781-z>.